

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 04-365489

(43)Date of publication of application : 17.12.1992

(51)Int.Cl.

C12P 7/18

(21)Application number : 03-140063

(71)Applicant : MITSUI TOATSU CHEM INC

(22)Date of filing : 12.06.1991

(72)Inventor : SUZUKI TADASHI
ISHIWATARI KENICHI

(54) PRODUCTION OF MYOINOSITOL

(57)Abstract:

PURPOSE: To inexpensively produce inositol from phytic acid at normal temperature under normal pressure.

CONSTITUTION: Phytic acid or a salt thereof is treated with a phosphatase of hydrolyzing phytic acid and forming inositol monophosphate and a phosphatase of hydrolyzing inositol monophosphate and forming myoinositol to produce myoinositol. Phytic acid or a salt thereof is simultaneously or successively treated with the phosphatase (phytase) of hydrolyzing phytic acid into inositol monophosphate and the phosphatase of hydrolyzing inositol monophosphate and forming myoinositol to efficiently produce myoinositol from phytic acid or a salt thereof at normal temperature under normal pressure.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

THIS PAGE BLANK (USPTO)

[Number of appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平4-365489

(43) 公開日 平成4年(1992)12月17日

(51) Int.Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

C 1 2 P 7/18

8114-4B

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全 4 頁)

(21) 出願番号 特願平3-140063

(22) 出願日 平成3年(1991)6月12日

(71) 出願人 000003126

三井東圧化学株式会社

東京都千代田区霞が関三丁目2番5号

(72) 発明者 鈴木 正

千葉県茂原市東郷1144番地 三井東圧化学株式会社内

(72) 発明者 石渡 健一

千葉県茂原市東郷1144番地 三井東圧化学株式会社内

(54) 【発明の名称】 ミオーイノシトールの製造法

(57) 【要約】

【目的】 フィチン酸から常温常圧でイノシトールを安価に生産する。

【構成】 フィチン酸を加水分解し、イノシトールモノリン酸を生成するホスファターゼおよびイノシトールモノリン酸を加水分解し、ミオーイノシトールを生成するホスファターゼをフィチン酸またはその塩に作用させてミオーイノシトールを生産させる。

【効果】 フィチン酸をイノシトールモノリン酸に加水分解するホスファターゼ（フィターゼ）とイノシトールモノリン酸を加水分解し、ミオーイノシトールを生成するホスファターゼを同時に、あるいは順次フィチン酸またはその塩に作用させることでフィチン酸またはその塩からミオーイノシトールを常温常圧で効率よく生産できる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 フィチン酸を加水分解し、イノシトールモノリン酸を生成するホスファターゼおよびイノシトールモノリン酸を加水分解し、ミオイノシトールを生成するホスファターゼをフィチン酸またはその塩に作用させてミオイノシトールを生成させることを特徴とするミオイノシトールの製造法。

【請求項2】 フィチン酸またはその塩にフィチン酸を加水分解し、イノシトールモノリン酸を生成するホスファターゼを作用させ、次いでイノシトールモノリン酸を加水分解してミオイノシトールを生成するホスファターゼを作用させることを特徴とするミオイノシトールの製造法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明はフィチン酸またはその塩からミオイノシトールを製造する方法に関するものである。ミオイノシトールは医薬品や飼料添加物として広く使用されている。

【0002】

【従来の技術】 従来、ミオイノシトールの製造は、脱脂米糠やコーンステープリカーなどからフィチン酸のカルシウム・マグネシウム複合塩であるフィチンを分離し、次いで高温高压下、フィチンを加水分解してミオイノシトールを得る方法が一般的に用いられてきた。しかし、高温高压下でのフィチンの加水分解は、特殊な装置や大量のエネルギーが必要であり、工業的製法としては、必ずしも有利ではない。

【0003】 一方、植物や微生物には、フィチン酸を加水分解するホスファターゼであるフィターゼが存在することが知られており、例えば植物ではマング・ビーン (Mungbean) (N. C. Mandal ら: *Phytochemistry*, vol. 11, p. 495-502, (1972))、小麦 (P. E. Lim ら: *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 302, p. 316-328, (1973))、などが知られており、微生物ではアスペルギルス (*Aspergillus*) 属 (Abul H. J. Ullah ら: *Preparative Biochemistry*, vol. 17, p. 63-91, (1987), M. Ghareib: *Acta Microbiologica Hungarica*, vol. 37, p. 159-164, (1990))、シュードモナス (*Pseudomonas*) (G. C. J. Irving ら: *Aust. J. Biol. Sci.*, vol. 24, p. 547-557, (1971))、バチルス・ズブチリス (*Bacillus subtilis*) (Vishnu K. Powar ら: *Journal of Bacteriology*, vol. 151, p. 1102-1108, (1982))、クレブシエラ (*Klebsiella*) (Varsha Shah ら: *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, vol. 27, p. 98-102, (1990)) などから精製されて性質が報告されている。

【0004】 フィターゼの作用によりフィチン酸またはその塩を加水分解し、ミオイノシトールを生産することも試みられている。例えば、Abul H. J. Ullah ら (*Preparative Biochemistry*, vol. 18, p. 483-489, (1988)) は、アスペルギルス属の微生物の生産するフィターゼを用

い、フィチン酸ナトリウム塩の加水分解反応を報告しているが、主な生成物はイノシトールモノリン酸であり、ミオイノシトールは生成しなかった。このようにフィターゼは、フィチン酸またはその塩からイノシトールモノリン酸までは加水分解するが、それ以上すなわちミオイノシトールまではほとんどまたは全く加水分解しないので、フィターゼを用いフィチン酸またはその塩からミオイノシトールを効率よく生産することは全く不可能であった。このように、従来、フィチン酸またはその塩より酵素反応により効率よくミオイノシトールを得る方法は全く知られていない。

【0005】

【発明が解決しようとする問題点】 本発明の目的は、フィチン酸またはその塩より酵素反応により効率よくミオイノシトールを得る方法を提供することである。

【0006】

【問題を解決するための手段】 本発明者らは、上記の従来技術の問題点について鋭意検討を重ねた結果、フィチン酸をミオイノシトールモノリン酸に加水分解するホスファターゼ (フィターゼ) とミオイノシトールモノリン酸を加水分解し、ミオイノシトールを生成するホスファターゼを同時に、あるいは順次フィチン酸またはその塩に作用させることでフィチン酸またはその塩からミオイノシトールを常温常圧で効率よく合成できることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0007】 フィチン酸を加水分解し、イノシトールモノリン酸を生成するホスファターゼ (以下フィターゼと記す) としては、特に限定されないが、例えばマング・ビーン (N. C. Mandal ら: *Phytochemistry*, vol. 11, p. 495-502, (1972))、小麦 (P. E. Lim ら: *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 302, p. 316-328, (1973))、などの植物由来のフィターゼ、アスペルギルス (*Aspergillus*) 属 (Abul H. J. Ullah ら: *Preparative Biochemistry*, vol. 17, p. 63-91, (1987), M. Ghareib: *Acta Microbiologica Hungarica*, vol. 37, p. 159-164, (1990))、シュードモナス (*Pseudomonas*) (G. C. J. Irving ら: *Aust. J. Biol. Sci.*, vol. 24, p. 547-557, (1971))、バチルス・ズブチリス (*Bacillus subtilis*) (Vishnu K. Powar ら: *Journal of Bacteriology*, vol. 151, p. 1102-1108, (1982))、クレブシエラ (*Klebsiella*) (Varsha Shah ら: *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, vol. 27, p. 98-102, (1990)) など微生物由来のフィターゼを用いることができる。

【0008】 一方、イノシトールモノリン酸を加水分解し、ミオイノシトールを生成するホスファターゼ (以下ホスファターゼと記す) は、アルカリ性ホスファターゼ (EC 3. 1. 3. 1)、酸性ホスファターゼ (EC 3. 1. 3. 2) など広い起源のものを用いることができる。

【0009】 これらの酵素は、必ずしも精製されたもの

でなくともよく、例えば微生物由来の酵素の場合は、部分精製酵素、培養液、微生物菌体などを酵素源として用いることも可能である。更に、植物や微生物の中にはフィターゼとホスファターゼを両方備えるものも知られており、例えばアスペルギルス・フィカム (*Aspergillus ficuum*) T.R. Shieh ら: *J. Bacteriology*, vol. 100, p. 1161-1165, (1969)) や マング・ピーン (N.C. Mandel ら: *Phytochemistry*, vol. 11, p. 495-502, (1972)) などではフィターゼとホスファターゼが共に存在することが知られている。従って、この場合には、両酵素の供給源として一

種類の部分精製酵素、培養液、微生物菌体などを用いることも可能である。
【0010】原料であるフィチン酸またはその塩は、種子や穀類に多く含有されているが、フィチン酸は、遊離状態で種子や穀類に存在することはほとんど無く、多くの場合は、カルシウム・マグネシウム複合塩であるフィチンとして存在する。従って、脱脂米糠やコーンスチープリカーなどから抽出したフィチンをそのまま酵素反応の基質として用いることが好都合であるが、フィチン酸、更にフィチン酸の重金属塩やアルカリ土類金属塩も

用いることができる。
【0011】フィチン酸またはその塩のフィターゼとホスファターゼによる加水分解は、両酵素の共存下に行っても良いし、まず先にフィターゼを作用させた後、次いでホスファターゼを作用させても良い。反応温度およびpHは用いる酵素源にもよるが、通常10~60℃、pH2~9の範囲である。酵素反応終了液からのミオイノシトールの分離はイオン交換樹脂を用いる方法などの常法を用いることができる。

表1

ホスファターゼ	ミオイノシトール (g/l)
Potato由来	0.97
Wheat germ由来	0.92
Bovine milk 由来	0.57
Sweet potato由来	1.74
無添加	0

【0015】実施例2

小麦のふすまから P.E. Lim らの方法 (*Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 302, p. 316-328, (1973)) により 130 単位/mg 蛋白質の活性を有するフィターゼを調製した。フィチン酸ナトリウム (Sigma 社製) 1.5g に蒸留水 100ml を加え NaOH で pH を 5.0 に調整し、フィターゼ 200 単位を添加して 30℃ で 1 日間振

* 【0012】

【実施例】以下に本発明の実施例を示す。なお実施例で示すフィターゼの活性は Abul H. J. Ullah らの方法 (*Preparative Biochemistry*, vol. 17, 63-91, (1987)) で測定したものであり、酵素 1 単位はフィチン酸ナトリウムを基質とし、58℃、pH 5.0 で 1 分間に 1 μmol のリン酸を生成する活性である。ホスファターゼの活性はシグマ社製酸性ホスファターゼ活性測定キット (シグマ社カタログ, p2055, (1991)) により測定したものであり、酵素 1 単位は p-nitrophenyl phosphate を基質とし、37℃、pH 4.8 で 1 分間に 1 μmol の p-nitrophenyl phosphate を加水分解する活性である。

【0013】実施例1

アスペルギルス・フィカム NRRL 3135 を用い、Abul H. J. Ullah らの方法 (*Preparative Biochemistry*, vol. 17, p. 63-91, (1987)) により 120 単位/mg 蛋白質の活性を有するフィターゼを調製した。フィチン酸ナトリウム (Sigma 社製) 1.5g に蒸留水 100ml を加え NaOH で pH を 5.0 に調整したのちフィターゼ 200 単位を添加して 30℃ で 1 日間振盪し、次に Potato 由来ホスファターゼ (sigma 社製)、Wheat germ 由来ホスファターゼ (sigma 社製)、Bovine milk 由来ホスファターゼ (sigma 社製)、Sweet potato 由来ホスファターゼ (sigma 社製) の何れかのホスファターゼを 20 単位添加し、更に 30℃ で 1 日間振盪した。反応液中のミオイノシトール生成量を液体クロマトグラフィーにより測定したところ表 1 に示すような結果が得られた。比較のためにフィターゼのみを用いた結果も表 1 に示した。

【0014】

盪した。次に Potato 由来ホスファターゼ (sigma 社製)、Wheat germ 由来ホスファターゼ (sigma 社製)、Bovine milk 由来ホスファターゼ (sigma 社製)、Sweet potato 由来ホスファターゼ (sigma 社製) の何れかのホスファターゼを 20 単位添加し、更に 30℃ で 1 日間振盪した。反応液中のミオイノシトール生成量を液体クロマトグラフィーにより測定したところ表 2 に示すよう

(4)

特開平4-365489

5

6

な結果が得られた。比較のためにフィターゼのみを用い
表2

た結果も表2に示した。

ホスファターゼ	ミオイノシトール (g/l)
Potato由来	0.95
Wheat germ由来	0.90
Bovine milk由来	0.55
Sweet potato由来	1.65
無添加	0.09

【0016】実施例3

アスペルギルス・フィカムNRRL3135をAbul H. J. Ullah らの方法 (Preparative Biochemistry, vol. 17, p. 63-91, (1987)) により培養した。この培養液20ml (フィターゼ10単位、ホスファターゼ20単位を含む) をフィチン酸ナトリウム (Sigma 社製) 1.5gに

蒸留水80mlを加えNaOHでpHを5.0に調整した溶液に添加して30℃で1日間振盪した。ミオイノシトール生成量を液体クロマトグラフィーにより測定したところ1.95g/lのミオイノシトールが生成していた。